

**INTERAKSI PERUMAH-TETAMU ANTARA
BETA-SIKLODEKSTRIN DENGAN LAKTOSA DAN KATECIN:
PERMODELAN MOLEKUL DAN KAJIAN EKSPERIMEN**

Oleh

MARSITA BINTI ABDUL GHANI

**Tesis yang diserahkan untuk memenuhi keperluan bagi
Ijazah Sarjana Sains**

OKTOBER 2008

PENGHARGAAN

السلام عليكم ورحمة الله

Alhamdulillah, syukur kehadiran Ilahi kerana dengan limpah kurnia-Nya, saya berjaya menyiapkan penyelidikan dan penulisan tesis diperingkat Ijazah Sarjana ini setelah menghadapi pelbagai halangan dan cubaan. Kejayaan ini juga amat bergantung kepada usaha dan pertolongan yang telah diberikan oleh pelbagai pihak. Maka, dengan kesempatan ini saya ingin menyatakan ucapan terima kasih kepada semua yang terlibat.

Pertama sekali, jutaan penghargaan ini ditujukan kepada penyelia saya, Dr. Rohana Adnan. Beliau telah banyak memberikan panduan, komen serta motivasi dengan penuh minat dan kesabaran. Jutaan penghargaan kepada penyelia bersama iaitu Prof. Madya Dr. Mohamad Abu Bakar yang banyak bersabar dan memberi sokongan padu terhadap perjalanan pengajian saya ini. Penghargaan ini juga ditujukan kepada semua pensyarah-pensyarah di Pusat Pengajian Sains Kimia terutamanya Dr. Coswald Stephen Sipaut @ Mohd Nasri dan Prof. Madya Dr. Muhammad Nasir Mohammad Ibrahim.

Setinggi-tinggi kasih ditujukan kepada ibu dan ayah tercinta Hj. Chik @ Zaharah binti Jusoh dan Hj. Abdul Ghani bin Abdullah (semoga ayah cepat sembuh). Tidak dilupakan juga penghargaan ini ditujukan kepada ahli keluarga tersayang, kakak-kakak dan abang-abang yang sentiasa memahami dan memberikan sokongan penuh terhadap apa yang saya lakukan.

Penyelidikan ini juga tidak dapat disempurnakan tanpa pertolongan dan bantuan daripada staf-staf di Pusat Pengajian Sains Kimia, USM. Setinggi-tinggi penghargaan kepada En. Ali yang membenarkan menggunakan makmal dan membantu mengendalikan peralatan-peralatan makmal. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Juruteknik Komputer En. Razak yang banyak membantu dalam

menyelesaikan masalah yang berkaitan komputer. Terima kasih diucapkan kepada En. Burhanuddin di bahagian TGA dan DSC. Terima kasih buat En. Fahmi di bahagian NMR serta En Mohd Noor dan En. Abdul Rahman di bahagian Stor Sains Kimia. Tidak dilupakan juga jutaan terima kasih kepada semua staf di Pejabat Am Pusat Pengajian Sains Kimia.

Seterusnya, ucapan penghargaan ini ditujukan kepada Institut Pengajian Siswazah, USM dalam membantu menyediakan keperluan kewangan pengajian saya.

Setinggi-tinggi terima kasih diucapkan kepada rakan-rakan kumpulan penyelidikan iaitu Rozita, Ariesma, Ariza, Zati, Solhan, Roshalina, Syahren, Isman, Hamdah. Ribuan terima kasih kepada Mardiana, Azian, Anis, Goh, Tham, Zunoliza, Najwa, Azirawati, Husna, Norhayati, Nurul Izza dan ramai lagi yang tidak tersebut nama di sini. Kalian telah membantu dalam menyelesaikan banyak masalah dan memberikan cadangan yang memberangsangkan melalui perbincangan berkesan. Tanpa bantuan dan sokongan daripada kalian, mungkin sukar untuk saya menyiapkan tesis ini sendirian. Semoga segala budi baik kalian akan mendapat keberkatan dan dipermudahkan urusan daripada Allah S.W.T.

Sekian, terima kasih.

Yang benar,



.....
(Marsita binti Hj. Abdul Ghani)

SENARAI KANDUNGAN

	Mukasurat
PENGHARGAAN	ii
SENARAI KANDUNGAN	iv
SENARAI JADUAL	viii
SENARAI RAJAH	x
SENARAI SINGKATAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
BAB SATU : PENGENALAN	1
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif kajian	4
1.3 Kandungan tesis	5
BAB DUA : KAJIAN LITERATUR	6
2.1 Kimia perumah-tetamu	6
2.2 Siklodekstrin	9
2.2.1 Penemuan siklodekstrin	10
2.2.2 Sifat-sifat dan pengelasan siklodekstrin	11
2.2.3 Kegunaan siklodekstrin	15
2.3 Laktosa	20
2.3.1 Sifat-sifat kimia laktosa	22
2.3.2 Ketidaktahanan tubuh terhadap laktosa	24
2.3.3 Kegunaan laktosa	25
2.4 Katecin	25

2.4.1	Sifat-sifat kimia katecin	27
2.4.2	Kegunaan katecin	28
2.5	Kimia pengkomputeran	30
2.5.1	Mekanik kuantum (<i>Quantum mechanics</i>)	31
2.5.1.1	Ab initio	31
2.5.1.2	Semiempirik	32
2.5.1.3	Teori fungsi ketumpatan	32
2.5.2	Mekanik molekul (<i>Molecular mechanics</i>)	33
2.5.3	Dinamik molekul (<i>Molecular dynamics</i>)	34
2.6	Ikatan hidrogen	35
BAB TIGA : KAEDAH DAN TATACARA		38
3.1	Permodelan molekul	38
3.1.1	Peralatan	38
3.1.2	Pengoptimuman geometri struktur molekul tunggal	38
3.1.2.1	Struktur molekul β -siklodekstrin tunggal	39
3.1.2.2	Struktur molekul laktosa tunggal	41
3.1.2.3	Struktur molekul (+)-katecin tunggal	42
3.1.3	Pengoptimuman geometri struktur molekul kompleks perumah-tetamu	42
3.1.3.1	Kompleks β -siklodekstrin dengan laktosa (kompleks 1)	43
3.1.3.2	Kompleks β -siklodekstrin dengan (+)-katecin (kompleks 2)	46
3.1.4	Pengiraan menggunakan kaedah teori fungsi ketumpatan	46
3.2	Penyediaan dan pencirian kompleks perumah-tetamu	47
3.2.1	Bahan kimia	47
3.2.2	Peralatan	47

3.2.3	Penyediaan kompleks perumah-tetamu	48
3.2.3.1	Kaedah pelumatan (Sampel A)	48
3.2.3.2	Kaedah se-pemendakan (Sampel B)	49
3.2.3.3	Kaedah se-penyejatan (Sampel C)	49
3.2.4	Pencirian	50
3.2.4.1	Analisis spektroskopi inframerah (FTIR)	50
3.2.4.2	Analisis resonan magnet nukleus-proton (^1H -NMR)	50
3.2.4.3	Analisis gravimetri termal (TGA) dan kalorimeter pengimbasan pembezaan (DSC)	50
BAB EMPAT	: KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN: PERMODELAN MOLEKUL	52
4.1	Pengoptimuman geometri struktur molekul tunggal	52
4.1.1	Struktur molekul β -siklodekstrin tunggal	52
4.1.2	Struktur molekul laktosa tunggal	63
4.1.3	Struktur molekul (+)-katecin tunggal	68
4.2	Pengoptimuman geometri struktur molekul kompleks perumah-tetamu	75
4.2.1	Kompleks β -siklodekstrin dengan β -laktosa (kompleks 1)	75
4.2.2	Kompleks β -siklodekstrin dengan (+)-katecin (kompleks 2)	88
4.3	Pengiraan menggunakan kaedah DFT	101
BAB LIMA	: KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN EKSPERIMEN	103
5.1	Pengenalan	103
5.2	Analisis spektroskopi infra merah (FTIR)	103
5.3	Analisis resonan magnet nukleus-proton (^1H -NMR)	110
5.4	Analisis gravimetri termal (TGA)	120
5.5	Analisis kalorimeter pengimbasan pembezaan (DSC)	127

BAB ENAM : KESIMPULAN DAN CADANGAN	132
6.1 Kesimpulan	132
6.2 Penyelidikan lanjutan	133
 RUJUKAN	135
LAMPIRAN A	147
LAMPIRAN B	148
LAMPIRAN C	149
PENERBITAN DAN SEMINAR	152

SENARAI JADUAL

	Mukasurat
Jadual 2.1 Sifat-sifat fizik dan ciri-ciri molekul siklodekstrin (Szejtli, 1998a).	13
Jadual 2.2 Struktur molekul gula dan sumbernya (Birch & Parker, 1979).	22
Jadual 2.3 Pengkelasan dan struktur molekul kumpulan flavonoid (de Rijke <i>et al.</i> , 2006).	26
Jadual 3.1 Struktur molekul dan sumber rujukan.	39
Jadual 4.1 Diameter serta ketinggian struktur molekul β -siklodekstrin kajian ini berbanding literatur.	54
Jadual 4.2 Nilai panjang ikatan, sudut ikatan dan sudut dihedral struktur molekul β -siklodekstrin tunggal yang paling optimum berbanding nilai purata literatur.	56
Jadual 4.3 Tujuh geometri ikatan hidrogen (intramolekul) dalam β -siklodekstrin paling optimum.	62
Jadual 4.4 Nilai panjang ikatan, sudut ikatan dan sudut diheral struktur molekul β -laktosa optimum berbanding literatur.	65
Jadual 4.5 Ikatan hidrogen (intramolekul) yang wujud dalam β -laktosa.	68
Jadual 4.6 Nilai panjang ikatan, sudut ikatan dan sudut dihedral struktur molekul (+)-katecin yang paling optimum berbanding literatur.	71
Jadual 4.7 Nilai tenaga paling minimum dan $\Delta E_{1:1}$ bagi setiap sistem konformasi kompleks 1 .	79
Jadual 4.8 Nilai panjang ikatan, sudut ikatan dan sudut dihedral struktur molekul β -siklodekstrin dalam kompleks 1 .	81
Jadual 4.9 Nilai panjang ikatan, sudut ikatan dan sudut dihedral struktur molekul β -laktosa dalam kompleks 1 .	83
Jadual 4.10 Ikatan hidrogen bagi kompleks 1 dengan sistem Glu Atas.	87
Jadual 4.11 Ikatan hidrogen bagi kompleks 1 dengan sistem Glu Bawah.	88
Jadual 4.12 Nilai tenaga paling minimum dan $\Delta E_{1:1}$ bagi setiap sistem konformasi kompleks 2 .	93
Jadual 4.13 Panjang ikatan, sudut ikatan dan sudut dihedral struktur molekul β -siklodekstrin dalam kompleks 2 .	96

Jadual 4.14	Panjang ikatan, sudut ikatan dan sudut dihedral bagi struktur molekul (+)-katecin dalam kompleks 2 .	98
Jadual 4.15	Ikatan hidrogen bagi kompleks 2 dengan sistem gelang A Bawah.	100
Jadual 4.16	Ikatan hidrogen bagi kompleks 2 dengan sistem gelang A Atas.	100
Jadual 4.17	Nilai tenaga bagi struktur molekul tunggal β -CD, β -laktosa dan (+)-katecin menggunakan kaedah B3LYP/6-31G**.	102
Jadual 4.18	Nilai tenaga pengkompleksan dan nilai $\Delta E_{1:1}$ bagi struktur optimum kompleks 1 dan 2 dengan struktur molekul tetamu berada di dalam rongga β -CD.	102
Jadual 5.1	Anjakan kimia spektrum ^1H -NMR dan nilai $\Delta\delta$ bagi kompleks β -siklodekstrin dengan laktosa (1a-c).	119
Jadual 5.2	Anjakan kimia spektrum ^1H -NMR dan nilai $\Delta\delta$ bagi kompleks β -siklodekstrin dan (+)-katecin (2a-c).	120
Jadual 5.3	Tahap penguraian, julat suhu dan peratus kehilangan jisim melalui analisis TGA bagi β -siklodekstrin, laktosa dan (+)-katecin tunggal.	123
Jadual 5.4	Tahap penguraian, julat suhu dan peratus kehilangan jisim melalui analisis TGA bagi kompleks 1b dan 2b .	126
Jadual 5.5	Suhu peleburan dan nilai perubahan entalpi (ΔH) melalui analisis DSC bagi β -siklodekstrin, laktosa dan (+)-katecin tunggal.	129
Jadual 5.6	Suhu peleburan dan nilai perubahan entalpi (ΔH) melalui analisis DSC bagi kompleks 1b dan 2b .	131

SENARAI RAJAH

	Mukasurat
Rajah 1.1	Lakaran kasar pembentukan kompleks perumah-tetamu. 1
Rajah 2.1	Pembentukan kompleks perumah-tetamu siklodekstrin dengan stoikiometri 2:1. 6
Rajah 2.2	Struktur molekul kalikzarin dalam pelbagai konformasi (t-Bu = tert-butil). 7
Rajah 2.3	Struktur molekul eter mahkota dalam pelbagai saiz. 8
Rajah 2.4	Struktur molekul siklotetrakromotropilena. 9
Rajah 2.5	Struktur molekul bagi satu unit α -D-glukopiranosida yang digunakan untuk membina siklodekstrin serta penomboran atom karbon. 11
Rajah 2.6	Struktur molekul α -, β - dan γ -siklodekstrin. 12
Rajah 2.7	(a) Kawasan hidrofobik, rantau hidrofilik, primer dan sisi sekunder. (b) Geometri atau saiz rongga dan ketinggian β -siklodekstrin. 14
Rajah 2.8	Peratus pembahagian artikel berdasarkan subjek yang berkaitan siklodekstrin (<i>Cyclodextrin-News</i>). 16
Rajah 2.9	Diagram laktosa. 23
Rajah 2.10	Struktur asas bagi monomer flavonoid. 26
Rajah 2.11	Contoh-contoh struktur molekul bagi kumpulan flavanoid Dalluge & Nelson, 2000). 28
Rajah 2.12	Ciri-ciri geometri ikatan hidrogen. 36
Rajah 3.1	Sistem penomboran bagi gelang D-glukopiranosida β -siklodekstrin (Nombor atom bertanda menunjukkan atom bagi gelang bersebelahan). 40
Rajah 3.2	Sistem dihedral dalam GaussView. 40
Rajah 3.3	Sistem koordinat yang digunakan untuk menakrifkan proses pengkompleksan perumah-tetamu antara β -siklodekstrin dan laktosa (kompleks 1) (a) laktosa bergerak ke dalam rongga β -siklodekstrin sepanjang paksi-X. (b) laktosa berada di luar rongga β -siklodekstrin dan membuat pusingan pada paksi-X. (c) laktosa berada di dalam rongga β -siklodekstrin dan membuat pusingan pada paksi-X. 45

Rajah 3.4	Sistem koordinat yang digunakan untuk menakrifkan proses pengkompleksan perumah-tetamu antara β -siklodekstrin dan katecin (kompleks 2).	46
Rajah 4.1	Pola nilai tenaga bagi konformasi struktur molekul β -siklodekstrin tunggal.	53
Rajah 4.2	Geometri struktur molekul β -siklodekstrin tunggal paling optimum (unit Å) (a) Pandangan atas (b) Pandangan sisi.	55
Rajah 4.3	Graf garis lurus bagi panjang ikatan β -siklodekstrin yang diperoleh daripada kajian ini melawan: (a) Panjang ikatan kajian eksperimen oleh Betzel <i>et al.</i> (1984). (b) Panjang ikatan kajian teori oleh Yan <i>et al.</i> (2006).	60
Rajah 4.4	Lilitan ikatan hidrogen yang terbentuk dalam β -siklodekstrin tunggal optimum.	62
Rajah 4.5	Pola nilai tenaga pengoptimuman geometri menggunakan pengimbasan relaks struktur molekul tunggal: (a) α -laktosa (b) β -laktosa.	64
Rajah 4.6	Struktur molekul β -laktosa yang paling optimum (unit Å). (a) Pandangan hadapan (b) Pandangan sisi.	64
Rajah 4.7	Struktur molekul β -laktosa serta penomboran atomnya [Kelabu = karbon (C), merah = oksigen (O), putih = hidrogen (H)].	65
Rajah 4.8	Pola nilai tenaga pengoptimuman pengimbasan relaks struktur molekul (+)-katecin.	70
Rajah 4.9	Struktur molekul (+)-katecin paling optimum (unit Å). (a) Pandangan hadapan (b) Pandangan sisi.	70
Rajah 4.10	Sistem penomboran atom bagi struktur molekul (+)-katecin.	70
Rajah 4.11	Pola nilai tenaga pengoptimuman geometri bagi struktur molekul β -laktosa yang berada di dalam rongga β -siklodekstrin (kompleks 1) pada jarak koordinat dan sistem berbeza.	76
Rajah 4.12	Pola nilai tenaga pengoptimuman geometri bagi struktur molekul β -laktosa yang berada di luar rongga β -siklodekstrin pada jarak koordinat, orientasi dan sistem berbeza: (a) Sistem Glu Bawah (b) Sistem Glu Atas	77
Rajah 4.13	Pola nilai tenaga pengoptimuman geometri bagi struktur molekul β -laktosa yang berada di dalam rongga β -siklodekstrin pada jarak koordinat, orientasi dan sistem berbeza: (a) Sistem Glu Bawah (b) Sistem Glu Atas	78

Rajah 4.14	Struktur geometri kompleks 1 yang paling optimum dengan sistem Glu Atas pada jarak koordinat -2.5 Å (a) Pandangan atas (b) Pandangan sisi.	80
Rajah 4.15	Struktur geometri kompleks 1 dengan sistem Glu Bawah pada jarak koordinat +5.0 Å. (a) Pandangan atas (b) Pandangan sisi.	81
Rajah 4.16	Pola nilai tenaga pengoptimuman geometri bagi struktur molekul (+)-katecin yang berada di dalam rongga β-siklodekstrin (kompleks 2) pada jarak koordinat dan sistem berbeza	89
Rajah 4.17	Pola nilai tenaga pengoptimuman geometri bagi struktur molekul (+)-katecin yang berada di luar rongga β-siklodekstrin pada jarak koordinat, orientasi dan sistem berbeza. (a) Sistem gelang A Atas (b) Sistem gelang A Bawah.	91
Rajah 4.18	Pola nilai tenaga pengoptimuman geometri bagi struktur molekul (+)-katecin yang berada di dalam rongga β-siklodekstrin pada jarak koordinat, orientasi dan sistem berbeza. (a) Sistem gelang A Atas (b) Sistem gelang A Bawah.	92
Rajah 4.19	Struktur geometri kompleks 2 dengan sistem gelang A Atas pada jarak koordinat -1.0 Å. (a) Pandangan atas (b) Pandangan sisi.	94
Rajah 4.20	Struktur geometri kompleks 2 yang paling optimum dengan sistem gelang A Bawah pada jarak koordinat +1.5 Å. (a) Pandangan atas (b) Pandangan sisi.	94
Rajah 5.1	Spektrum FTIR bagi β-siklodekstrin tunggal.	104
Rajah 5.2	Spektrum FTIR bagi laktosa tunggal.	106
Rajah 5.3	Spektrum FTIR bagi (+)-katecin tunggal.	106
Rajah 5.4	Spektra FTIR bagi β-siklodekstrin dan laktosa tunggal serta kompleks perumah-tetamunya (1a , 1b dan 1c).	109
Rajah 5.5	Spektra FTIR bagi β-siklodekstrin dan (+)-katecin tunggal serta kompleks perumah-tetamunya (2a , 2b dan 2c).	109
Rajah 5.6	Spektrum ¹ H-NMR bagi β-siklodekstrin tunggal.	111
Rajah 5.7	Spektrum ¹ H-NMR bagi laktosa tunggal.	113
Rajah 5.8	Spektrum ¹ H-NMR bagi (+)-katecin tunggal.	115
Rajah 5.9	Spektrum ¹ H-NMR kompleks β-siklodekstrin dengan laktosa: (a) 1a (b) 1b (c) 1c .	117
Rajah 5.10	Spektrum ¹ H-NMR kompleks β-siklodekstrin dengan (+)-katecin: (a) 2a (b) 2b (c) 2c .	118

Rajah 5.11	Termogram TGA bagi sebatian tunggal: (a) β -siklodekstrin (b) laktosa (c) (+)-katecin.	123
Rajah 5.12	Termogram TGA bagi kompleks perumah-tetamu: (a) β -siklodekstrin dengan laktosa, 1b . (b) β -siklodekstrin dengan (+)-katecin, 2b .	126
Rajah 5.13	Termogram DSC bagi sebatian tunggal: (a) β -siklodekstrin (b) laktosa (c) (+)-katecin.	129
Rajah 5.14	Termogram DSC bagi kompleks perumah-tetamu: (a) β -siklodekstrin dengan laktosa, 1b . (b) β -siklodekstrin dengan (+)-katecin, 2b .	131

SENARAI SINGKATAN

B3LYP	Becke 3 Lee Yang Par
β -CD	Beta-siklodekstrin (<i>Beta-cyclodextrin</i>)
D ₂ O	Deuterium oksida (<i>Deuterium Oxide</i>)
DFT	Teori Fungsi Ketumpatan (<i>Density Functional Theory</i>)
DMSO	Dimetil Sulfoksida (<i>Dimethyl Sulfoxide</i>)
DSC	Kalorimeter Pengimbasan Pembezaan (<i>Different Scanning Calorimeter</i>)
EFF	Medan Daya Empirikal (<i>Empirical Force Field</i>)
FTIR	Spektroskopi Tranformasi Fourier Inframerah (<i>Fourier Transform Infrared</i>)
Glu	Glukosa (<i>Glucose</i>)
Gal	Galaktosa (<i>Galactose</i>)
¹ H-NMR	Resonan Magnet Nukleus-Proton (<i>Proton-Nuclear Magnetic Resonance</i>)
IEM	Ralat Metabolisma Pralahir (<i>Inborn Errors Metabolisme</i>)
MB	Mega bait (<i>Mega Bytes</i>)
MD	Dinamik molekul (<i>Molecular Dynamics</i>)
PM3	Kaedah Parametrik 3 (<i>Parametric Method 3</i>)
RAM	Ingatan Capaian Rawak (<i>Read Access Memory</i>)
TGA	Analisis Gravimetri Terma (<i>Thermal Gravimetric Analysis</i>)

INTERAKSI PERUMAH-TETAMU ANTARA BETA-SIKLODEKSTRIN DENGAN LAKTOSA DAN KATECIN: PERMODELAN MOLEKUL DAN KAJIAN EKSPERIMEN

ABSTRAK

Kajian interaksi antara perumah dan tetamu telah dijalankan dan dikaji secara eksperimen dan permodelan molekul terhadap β -siklodekstrin (β -CD) dengan β -laktosa (kompleks 1) dan β -CD dengan (+)-katecin (kompleks 2). Kedua-dua kompleks tersebut dianalisis menggunakan Spektroskopi Infra Merah Transformasi Fourier (FTIR), Resonan Magnet Nukleus-Proton ($^1\text{H-NMR}$), Analisis Gravimetri Termal (TGA) dan Analisis Kalorimeter Pengimbasan Pembezaan (DSC). Analisis spektrum $^1\text{H-NMR}$ bagi kedua-dua kompleks menunjukkan perubahan paling ketara berlaku pada H3 dan H5 iaitu proton yang berada di dalam rongga β -CD berbanding proton lain. Hal ini menunjukkan kewujudan interaksi molekul antara proton di dalam rongga β -CD dengan molekul tetamu. Melalui kaedah pengkomputeran, pengoptimuman geometri molekul dengan stoikiometri 1:1 dilakukan menggunakan kaedah semiempirik (PM3) dan teori fungsi ketumpatan (B3LYP/6-31G**). Struktur-struktur kompleks dengan keadaan molekul tetamu berada di luar dan di dalam rongga β -CD pada koordinat, orientasi dan sistem yang berbeza telah dikaji. Keputusan permodelan molekul adalah konsisten dengan keputusan eksperimen yang membuktikan bahawa molekul tetamu berada di dalam rongga hidrofobik β -CD. Bagi kompleks 1, kedudukan β -laktosa yang paling optimum adalah apabila unit glukosa (Glu) berada hampir dengan kumpulan hidroksil sekunder β -CD (sistem Glu Atas). Manakala bagi kompleks 2, kedudukan (+)-katecin yang paling optimum adalah apabila bahagian gelang B berada pada kedudukan yang hampir dengan kumpulan hidroksil sekunder β -CD (sistem A Bawah).

Kata kunci: Perumah-tetamu; Permodelan molekul; β -siklodekstrin; β -Laktosa; (+)-Katecin.

HOST-GUEST INTERACTION BETWEEN BETA-CYCLODEXTRIN WITH LACTOSE AND CATECHIN: MOLECULAR MODELING AND EXPERIMENTAL STUDY

ABSTRACT

Host guest interactions studies between β -cyclodextrin (β -CD) with β -lactose (complex **1**) and β -CD with (+)-catechin (complex **2**) were investigated using both experimental and molecular modeling techniques. Both of the complexes were analysed using Fourier Transform Infra Red Spectroscopy (FTIR), Proton Nuclear Magnetic Resonance (^1H -NMR), Thermal Gravimetric Analysis (TGA) and Differential Scanning Calorimeter (DSC). Results from ^1H -NMR spectroscopy for both of the complexes show the biggest changes in chemical shifts due to H3 and H5 protons which are located inside the β -CD cavity. This shows the existence of the molecule interaction between protons inside the β -CD cavity and guest molecules. In the molecular modeling study, the geometry optimization calculation using 1:1 stoichiometry was performed by using semiempirical (PM3) and density functional theory (B3LYP/6-31G**) methods. Various complexation structures with the guest molecule located inside and outside the β -CD cavity at different coordinates, orientations and systems were investigated. The geometry optimization results were consistent with the results obtained from experimental techniques which confirmed that the guest molecules are located inside of β -CD hydrophobic cavity. For complex **1**, the most optimum position of β -lactose is when the glucose unit (Glu) is near the secondary hydroxyl groups of β -CD (Glu Top system). Meanwhile for complex **2**, the optimum position of (+)-catechin is when the ring B of catechin is located near the secondary hydroxyl groups of β -CD (A Above system).

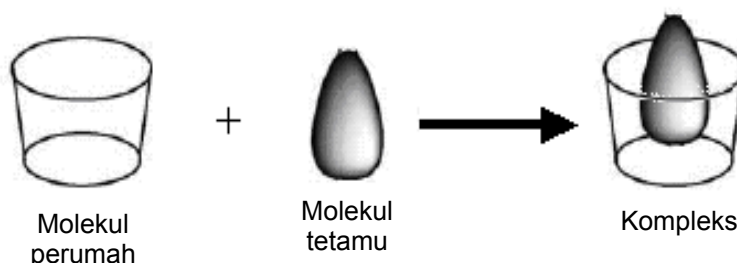
Keywords: Host-guest; Molecular modeling; β -cyclodextrin; β -Lactose; (+)-Catechin.

BAB SATU

PENGENALAN

1.1 PENGENALAN

Kimia supramolekul adalah satu bidang penyelidikan kimia yang berkaitan dengan pembentukan himpunan besar molekul-molekul yang berpautan antara satu sama lain oleh daya intramolekul (contohnya ikatan hidrogen dan daya van der Waals) (Isaacs *et al.*, 1999). Salah satu contoh bagi bidang kimia supramolekul ialah kimia perumah-tetamu (*inclusion complexes*). Kompleks perumah-tetamu ialah satu bentuk kompleks campuran atau sebatian yang terdiri daripada dua komponen atau lebih. Molekul perumah merupakan molekul yang mempunyai struktur berongga bagi membolehkan molekul tetamu memadan kepadanya. Lazimnya, interaksi perumah-tetamu melibatkan pembentukan ikatan bukan kovalen (Braibanti *et al.*, 1998). Rajah 1.1 di bawah menunjukkan lakaran kasar bagi molekul perumah dan tetamu.



Rajah 1.1: Lakaran kasar pembentukan kompleks perumah-tetamu.

Dalam penyelidikan ini, β -siklodekstrin (β -CD) (rujuk Rajah 2.6) dengan formula molekul $C_{42}H_{70}O_{35}$ telah dipilih sebagai molekul perumah kerana ia mudah diperolehi dan umumnya paling kerap digunakan (Giordano *et al.*, 2001; Krishnaveni *et al.*, 2005). Selain itu, β -siklodekstrin berupaya membentuk kompleks perumah-tetamu dengan pelbagai molekul tetamu termasuklah sebatian organik, farmaseutikal dan organologam. Angelova dan ahli kumpulannya (1999), menyatakan bahawa

daripada tiga jenis siklodekstrin yang utama, β -siklodekstrin mempunyai kebolehan yang paling tinggi dan terbaik untuk membentuk kompleks perumah-tetamu terutamanya dengan molekul dadah (*drug*). Kebolehan siklodekstrin untuk membentuk kompleks perumah-tetamu berkurangan dalam turutan β -siklodekstrin > α -siklodekstrin > γ -siklodekstrin (Angelova *et al.*, 1999). Antara sifat terpenting β -siklodekstrin ialah ia tidak bertoksik dan juga selamat kepada metabolisme manusia (Szetjli & Szente, 2005; Krishnaveni *et al.*, 2005).

Laktosa merupakan molekul tetamu yang pertama digunakan dalam kajian kompleks perumah-tetamu ini (rujuk Rajah 2.9). Ia adalah satu unsur yang terdapat dalam susu khususnya susu lembu. Susu merupakan makanan terpenting untuk kesihatan manusia dalam memberikan tenaga, kecerdasan fizikal dan kecerdasan mental. Bagaimanapun, sesetengah bayi mahupun orang dewasa mengalami masalah ketidak-tahanan tubuh terhadap laktosa [*Inborn Errors Metabolisme* (IEM) atau penyakit galaktosemia] yang terdapat dalam susu seterusnya menyebabkan penyakit yang berkaitan dengan perut, kerosakan hati dan sistem saraf (Bruice, 2004). Pada tahun 2005, sebanyak 200 kes baru IEM dikesan di Hospital Kuala Lumpur (HKL) manakala tahun 2006 pula sebanyak 300 kes. Untuk tahun berikutnya dijangka jumlah kes semakin bertambah, malah kes IEM di Malaysia adalah yang tertinggi di Asia Tenggara. Angka itu sebenarnya mungkin lebih tinggi jika setiap negeri mempunyai pusat rawatan IEM bagi mengesan penyakit tersebut. Setakat ini, pusat rawatan IEM hanya didapati di HKL dan di Institut Penyelidikan Perubatan (IMR) (Iszahanid, 2006).

Di samping itu, kajian pembentukan kompleks perumah-tetamu antara β -siklodekstrin laktosa dijalankan adalah bertujuan untuk mengaplikasikan laktosa di dalam bidang lain seperti industri farmaseutikal. Laktosa yang berketulenan tinggi mempunyai potensi yang baik sebagai pengisi (*fillers*) dalam pil dan kapsul

(Angberg, 1995; Dincer *et al.*, 1999). Sebatian laktosa juga dikaji dalam proses meningkatkan keterlarutan protein dalam *Escherichia coli* (Weng *et al.*, 2006).

Molekul tetamu kedua yang dipilih ialah sebatian (+)-katecin (rujuk Rajah 2.11a). (+)-Katecin boleh diperoleh daripada tumbuh-tumbuhan atau buah-buahan. Ia banyak digunakan dalam bidang perubatan dan farmaseutikal sebagai agen anti-oksidan, anti-penuaan, perencat atau pencegah kanser. Ia juga digunakan untuk mengubati penyakit kulit, pencegah pembentukan plak gigi dan merawat pelbagai jenis penyakit lain (Lotito & Fraga, 1998; Tsanova-Savova *et al.*, 2005; Row & Jin, 2006; Zaveri, 2006). Namun demikian, penggunaan (+)-katecin adalah terhad kerana sebatian (+)-katecin mempunyai sifat-sifat kimia yang kurang baik terutamanya keterlarutan dalam air yang sangat rendah (Dias *et al.*, 2008). Keterlarutan yang rendah ini seterusnya mengurangkan kebolehan-bio (*bioavailability*) seterusnya cerakin biologi (*biological assays*) sukar dilaksanakan. Ia juga mudah teroksidakan, sensitif terhadap cahaya, mengalami degradasi pada pH melebihi 6.5 dan mempunyai rasa pahit yang menyebabkan ia sukar untuk digunakan dan diaplikasikan dalam bidang perubatan atau sebagai bahan makanan tambahan (Ishizu *et al.*, 1999; Calabrò *et al.*, 2004; Jullian *et al.*, 2007).

Pembentukan kompleks perumah-tetamu antara β -siklodekstrin dengan (+)-katecin ini bertujuan melindunginya [(+)-katecin] daripada terdegradasi dan sebagai bahan penopeng daripada rasa pahit. Ia juga dapat meningkatkan keterlarutan, bio-ketersediaan serta meningkatkan kestabilan kimia dan fizik bagi molekul tetamu tersebut berbanding molekul bebas atau molekul tunggalnya (Braibanti *et al.*, 1998; Grandeury *et al.*, 2003; Dubes *et al.*, 2003; Yuliani *et al.*, 2006).

Kompleks perumah-tetamu β -siklodekstrin dengan laktosa (kompleks 1) dan β -siklodekstrin dengan (+)-katecin (kompleks 2) disediakan melalui tiga kaedah yang

berbeza iaitu pelumatan, se-pemendakan dan se-penyejatan. Disamping itu juga, kajian ini dilakukan menggunakan kaedah permodelan molekul dan pengoptimuman geometri supaya interaksi antara molekul perumah dan tetamu yang lebih terperinci dapat dibongkar.

Kaedah permodelan molekul merupakan suatu kaedah teori yang menggunakan komputer untuk menyelesaikan masalah-masalah kimia, biologi dan farmaseutikal (Geldenhuys *et al.*, 2006). Melalui literatur yang dibuat didapati, kaedah teori yang sesuai digunakan dalam penyelidikan pengkompleksan perumah-tetamu menggunakan β -siklodekstrin ialah kaedah PM3 (*Parameterized Model 3*) (Stewart, 1989) kerana ia melibatkan saiz molekul yang besar (Szejtli, 1998a). Kebolehlaksanaan tenaga penstabilan bagi kompleks yang dioptimumkan menggunakan kaedah PM3 ini adalah hampir sama dengan kaedah B3LYP (*Becke 3 Lee Yang Parr*) (Dos Santos *et al.*, 2000). Pengiraan titik tunggal menggunakan kaedah B3LYP dengan set basis 6-31G** tetap dijalankan untuk mengkaji pola keputusan kajian.

1.2 OBJEKTIF KAJIAN

Objektif kajian penyelidikan ini adalah:

- (1) Mengkaji interaksi yang berlaku antara molekul perumah iaitu β -siklodekstrin dengan dua molekul tetamu iaitu laktosa dan (+)-katecin melalui kajian eksperimen dan permodelan molekul.
- (2) Membandingkan keputusan interaksi yang berlaku antara perumah dan tetamu yang diperoleh melalui kaedah eksperimen dengan permodelan molekul.

1.3 KANDUNGAN TESIS

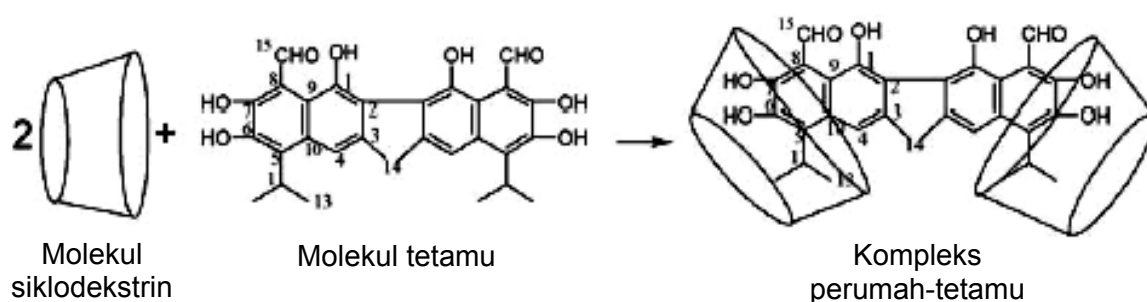
Tesis ini mengandungi enam bab yang mana Bab Satu ialah pengenalan penyelidikan. Bab Dua berkenaan literatur yang dibuat dalam menjalankan penyelidikan. Bab Tiga pula menerangkan secara terperinci tatacara kajian yang dijalankan dalam kaedah permodelan molekul dan eksperimen. Bab Empat menjelaskan perbincangan yang dibuat berdasarkan keputusan permodelan molekul yang diperoleh manakala Bab Lima pula mengandungi keputusan dan perbincangan yang diperoleh melalui kaedah eksperimen. Kesimpulan dan penyelidikan lanjutan dibincangkan dalam bab terakhir iaitu Bab Enam.

BAB DUA

KAJIAN LITERATUR

2.1 KIMIA PERUMAH-TETAMU

Nisbah stoikiometri rangkuman atau kemasukan antara perumah dan tetamu yang sering berlaku adalah 1:1. Bagaimanapun, pembentukan kompleks dengan nisbah stoikiometri 2:1, 1:2 dan kompleks yang lebih rumit juga boleh berlaku (Szejtli, 1998b). Rajah 2.1 menunjukkan contoh pembentukan kompleks siklodekstrin dan molekul tetamu dengan stoikiometri 2:1 yang telah dikaji oleh Shen *et al.* (2005).

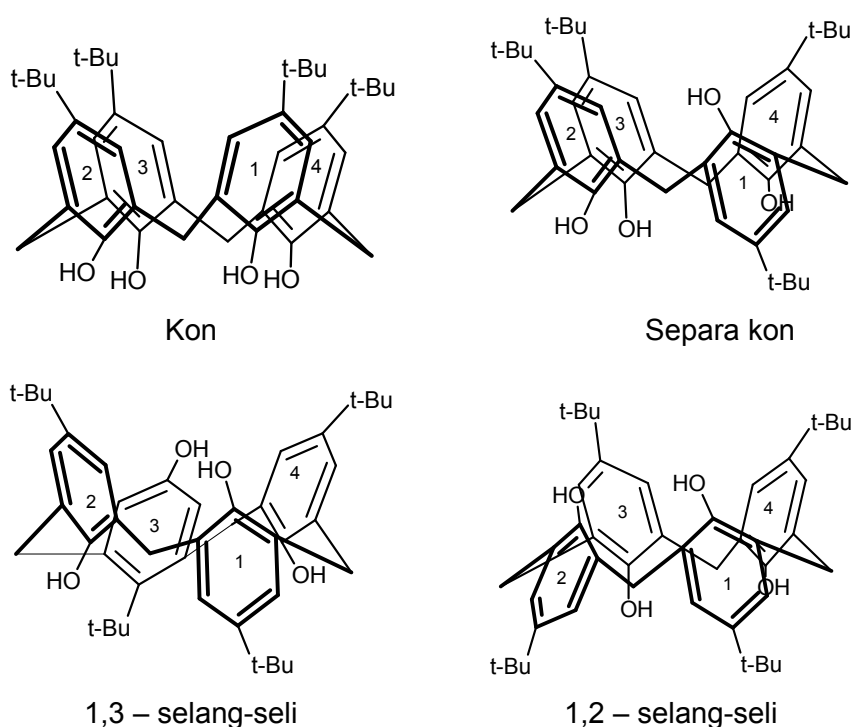


Rajah 2.1: Pembentukan kompleks perumah-tetamu siklodekstrin dengan stoikiometri 2:1.

Faktor utama yang perlu diambil kira untuk menghasilkan kompleks perumah-tetamu ialah diameter dalam rongga siklodekstrin dan saiz molekul tetamu (Ali *et al.*, 2004). Molekul tetamu yang berpotensi untuk membentuk kompleks perumah-tetamu menggunakan perumah siklodekstrin terdiri daripada pelbagai bahan organik dan tak organik termasuk sebatian-sebatian seperti alifatik yang berantai lurus atau bercabang, aldehyd, keton, alkohol, asid organik, asid lemak, halogen, oksiasid, amina dan banyak lagi (Piperaki *et al.*, 1996; Singh *et al.*, 2002).

Tindak balas antara perumah dan tetamu boleh menghasilkan pelbagai daya interaksi intermolekul yang lemah seperti interaksi dwikutub–dwikutub, hidrofobik, elektrostatik, van der Waals dan ikatan hidrogen yang seterusnya bertindak sebagai penyumbang proses pengecaman molekul (Betzel *et al*, 1984; Piperaki & Parissi-Poulou., 1996).

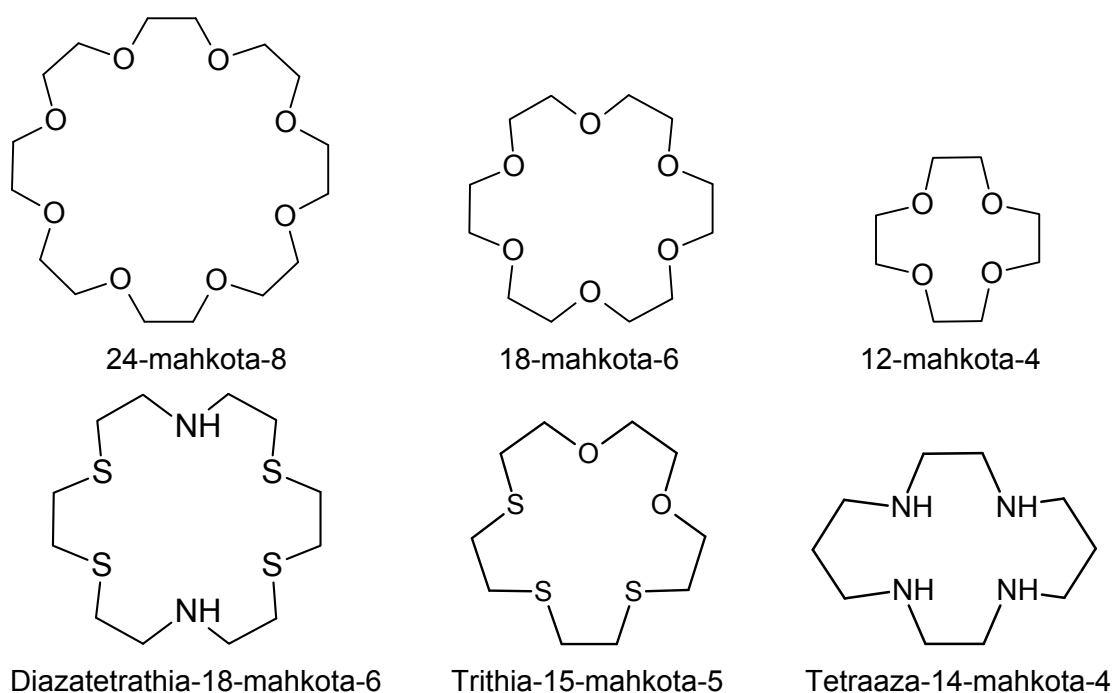
Contoh-contoh molekul perumah lain termasuklah kalikzarin, eter mahkota dan siklotetrakromotropilena. Struktur molekul kalikzarin wujud dalam pelbagai bentuk konformasi iaitu bentuk kon (*cone*), separa kon (*partial cone*), 1,3-selang-seli (*1,3-alternate*) dan 1,2-selang-seli (*1,2-alternate*) (Neri *et. al.*, 1996). Struktur-struktur kalikzarin dengan pelbagai konformasi ditunjukkan dalam Rajah 2.2.



Rajah 2.2: Struktur molekul kalikzarin dalam pelbagai konformasi (t-Bu = tert-butil).

Eter mahkota pula mempunyai formula molekulnya 1,4-dioksa $[(O-CH_2-CH_2-O)_n]$ yang berulang-ulang. Eter mahkota memiliki struktur unik dengan konformasi siklik disebabkan kehadiran struktur rongga dan kesan keelektronegatifan yang kuat

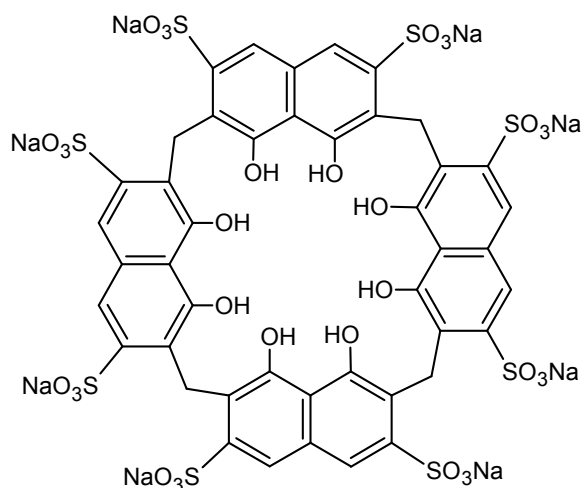
pada heteroatom atau kumpulan penderma seperti oksigen, nitrogen, sulfur dan kadang-kadang fosforus (Pedersen, 1967). Saiz rongga eter mahkota ditentukan oleh panjang rantai kumpulan eter dan banyaknya atom penderma yang wujud dalam gelang makrosiklik tersebut yang mana semakin panjang rantai dan atom penderma, maka semakin besar saiz rongga eter mahkota tersebut (Inoue *et al.*, 1985). Rajah 2.3 menunjukkan beberapa contoh struktur molekul eter mahkota.



Rajah 2.3: Struktur molekul eter mahkota dalam pelbagai saiz.

Siklotetrakromotropilena (Rajah 2.4) telah disintesis oleh kumpulan penyelidikan Poh sejak tahun 1989 lagi (Poh *et al.*, 1989). Siklotetrakromotropilena disintesis melalui tindak balas antara asid kromotropik dengan penambahan formaldehid secara berperingkat dengan nisbah tertentu menggunakan suhu refluks dan juga masa tindak balas yang terkawal. Siklotetrakromotropilena yang larut air terhasil dalam bentuk pepejal merah tua dengan ketulenan yang tinggi (Poh *et al.*, 1989). Penyelidikan siklotetrakromotropilena mendapati keupayaannya berkompleks dengan pelbagai amina dengan stoikiometri 1:1 (Poh & Lim, 1990). Ia juga

menunjukkan ciri-ciri pengkompleksan spesifik perumah-tetamu terhadap pelbagai molekul tetamu seperti alkohol, fenol (Poh *et al.*, 1993a), parakuat (Poh *et al.*, 1993b) dan eter mahkota (Poh & Tan, 1995).



Rajah 2.4: Struktur molekul siklotetrakromotropilena.

2.2 SIKLODEKSTRIN

Kajian ini dijalankan menggunakan siklodekstrin (rujuk Rajah 2.6) iaitu salah satu jenis molekul perumah yang sangat berpotensi untuk membentuk kompleks perumah-tetamu (Giordano *et al.*, 2001). Siklodekstrin menjadi pilihan kebanyakan pengkaji kerana (Szejtli, 1998b):

- (1) Ia adalah produk-produk yang dihasilkan daripada bahan semula jadi yang boleh diperbaharui melalui proses penukaran enzim kanji yang ringkas.
- (2) Ia dihasilkan dalam amaun beribu-ribu tan pada setiap tahun melalui teknologi mesra alam.
- (3) Kos yang rendah
- (4) Melalui keupayaannya membentuk kompleks perumah-tetamu, ia mampu menghasilkan suatu kompleks yang boleh diubahsuai berpadanan dengan sifatnya.
- (5) Kesan toksiknya adalah sangat rendah.

2.2.1 Penemuan siklodekstrin

Szejtli (1998b) melaporkan bahawa, kajian yang dijalankan oleh Villiers pada tahun 1891 telah membuktikan kewujudan siklodekstrin dan menentukan komposisinya sebagai $(C_6H_{10}O_6)_2 \cdot 3H_2O$. Bahan ini dinamakan sebagai "*cellulosine*" kerana ia menyerupai selulosa yang bersifat tahan terhadap hidrolisis asid dan juga tidak menunjukkan sifat-sifat penurunan.

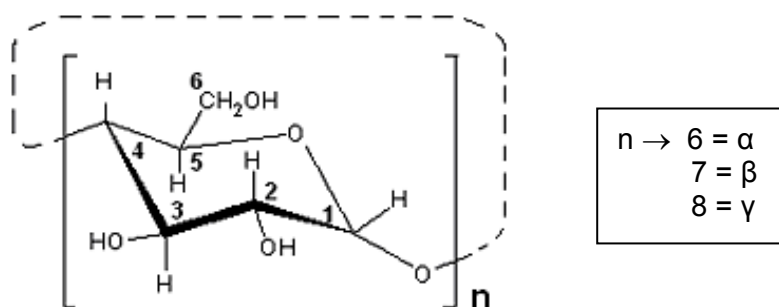
Kajian terhadap siklodekstrin ini diteruskan oleh penyelidik Schardinger (Del Valle, 2004). Beliau mempelajari pelbagai kaedah pengasingan penyaringan *bacetrin* yang digunakan dalam proses memasak. Proses tersebut difikirkan bersangkut paut dengan beberapa kes keracunan makanan. Schardinger meneruskan kajiannya dengan harapan beliau dapat menghasilkan sesuatu terhadap sintesis dan degradasi kanji tersebut.

Rumusan laporan Szejtli (1998a), menyatakan bahawa pada tahun 1930-an, Freudenberg dan ahli kumpulannya melakukan eksperimen berdasarkan pemerhatian mereka dan sebahagiannya adalah berdasarkan pemerhatian yang dibuat terhadap penerbitan atau penyelidikan oleh Karrer, Miekeley dan lain-lain. Akhirnya mereka dapat membuat kesimpulan bahawa hablur dekstrin Schardinger terdiri daripada unit-unit maltosa dan mengandungi ikatan α -1,4-glikosidik. Pada tahun 1948 hingga 1950, γ -siklodekstrin telah ditemui dan penjelasan strukturnya dapat diketahui. Pada awal tahun 1950-an, kumpulan penyelidikan French dan Cramer telah menghasilkan sebatian siklodekstrin daripada komponen-komponen tulen secara berperingkat dan melakukan pencirian terhadap sifat-sifat kimia dan fizikalnya. Kumpulan French mendapati siklodekstrin juga wujud dalam saiz yang lebih besar, manakala kumpulan Cramer menumpukan perhatian utamanya terhadap sifat-sifat kompleks perumah-tetamu yang terhasil daripada siklik dektrins (Szejtli,

1998a). Siklodekstrin juga dikenali sebagai dekstrins Schardinger, sikloamilosa, siklomaltosa atau sikloglukans (Al-Sherbini, 2005).

2.2.2 Sifat-sifat dan pengelasan siklodekstrin

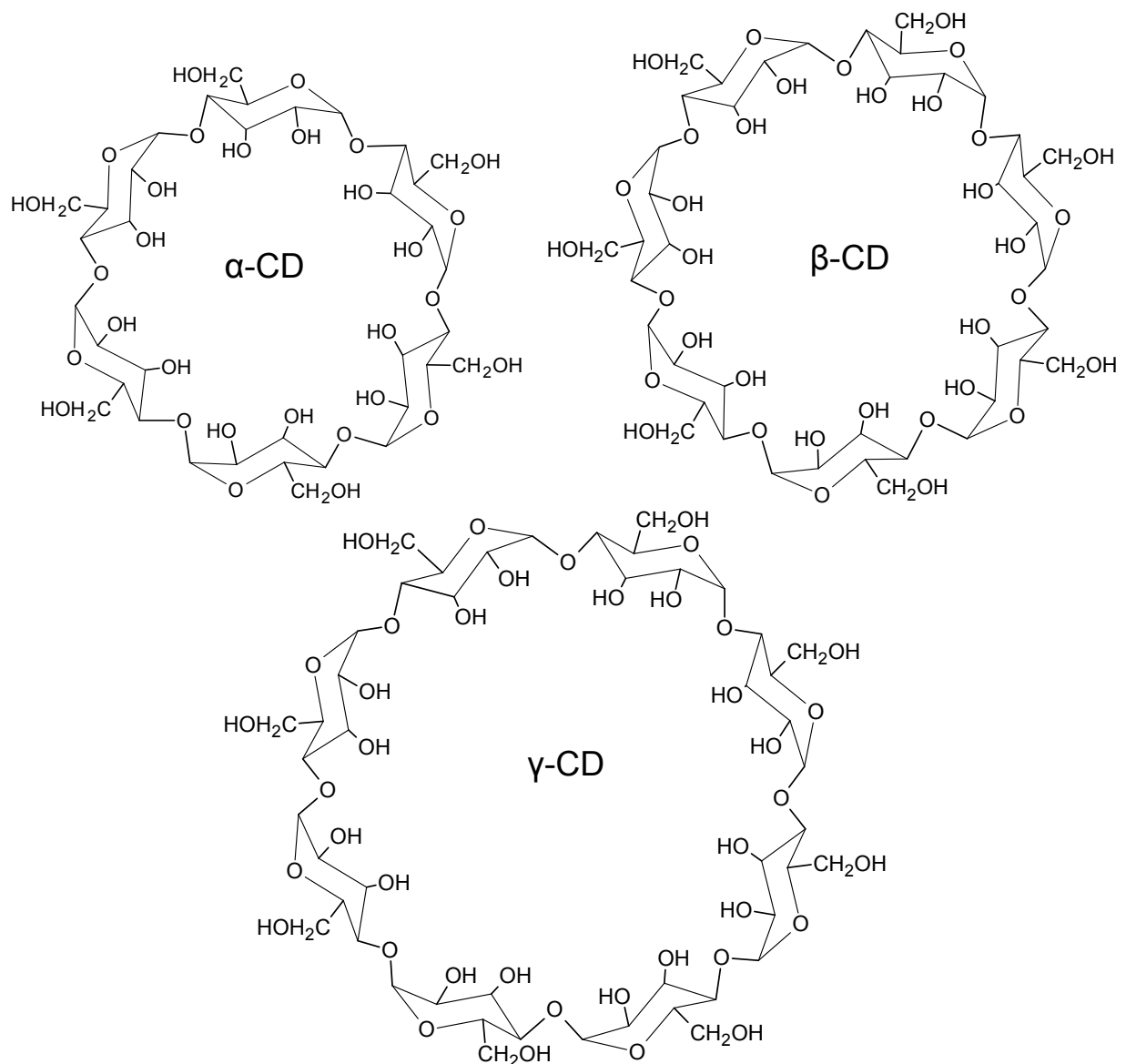
Siklodekstrin mempunyai tiga sifat utama iaitu berhablur, homogen dan bukan-higroskopik (tidak menyerap air daripada atmosfera). Struktur molekul bahan ini wujud dalam bentuk torus atau seperti gelang makro yang terdiri daripada unit-unit α -D-glukopiranos. Rajah 2.5 menunjukkan struktur molekul bagi satu unit α -D-glukopiranos iaitu $C_6H_{10}O_5$ yang bersedia untuk membentuk struktur siklodekstrin. Unit-unit α -D-glukopiranos ini dengan jumlah bilangan berbeza terikat antara satu sama lain melalui ikatan glikosidik- α -(1 \rightarrow 4), seterusnya menghasilkan siklodekstrin yang mempunyai saiz yang berbeza-beza. Sehubungan itu, penamaan siklodekstrin dengan menggunakan simbol Greek yang berbeza dipraktikkan bagi membezakan saiz-saiz siklodekstrin tersebut (Cao *et al.*, 2003).



Rajah 2.5: Struktur molekul bagi satu unit α -D-glukopiranos yang digunakan untuk membina siklodekstrin serta penomboran atom karbon.

Rajah 2.6 pula menunjukkan tiga jenis siklodekstrin yang utama iaitu α -siklodekstrin, β -siklodekstrin dan γ -siklodekstrin yang masing-masing merujuk kepada enam, tujuh dan lapan unit α -D-glukopiranos. Ringkasan ciri-ciri atau sifat-sifat penting bagi siklodekstrin tersebut ditunjukkan dalam Jadual 2.1. Siklodekstrin yang mempunyai saiz lebih besar seperti δ -, ζ -, ϵ - dan η -siklodekstrin (sembilan

hingga 12 unit α -D-glukopiranos) telah ditemui dan dikenalpasti (Del Valle, 2004). Pengenalpastian sebatian tersebut dilakukan dengan menggunakan teknik kromatografi dan ia telah diperoleh sebagai hasil campuran molekul siklik tulen yang mempunyai ikatan α -(1 \rightarrow 4) dengan sejumlah kecil molekul siklik bercabang dan rangkaian dekstrin yang mempunyai cabang terbuka (Saenger *et al.*, 1998). Bagaimanapun, siklodekstrin yang mempunyai unit α -D-glukopiranos yang kurang daripada enam tidak wujud. Hal ini disebabkan oleh halangan sterik yang wujud dalam struktur tersebut (Dodziuk, 2002).



Rajah 2.6: Struktur molekul α -, β - dan γ -siklodekstrin.

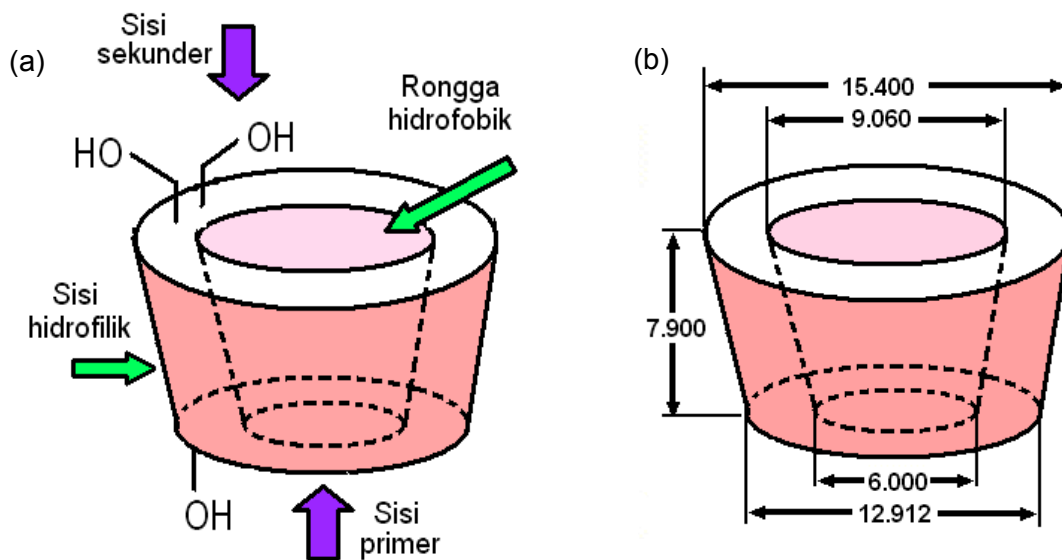
Jadual 2.1: Sifat-sifat fizik dan ciri-ciri molekul siklodekstrin (Szejtli, 1998a).

	α -CD	β -CD	γ -CD
Bilangan unit α -D-glukopiranos	6	7	8
Formula molekul	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
Berat molekul ($g\ mol^{-1}$)	972	1135	1297
Keterlarutan dalam air pada suhu bilik ($g\ 100\ mL^{-1}$)	14.5	1.85	23.2
Diameter dalam rongga, Å	4.7 – 5.3	6.0 – 6.5	7.5 – 8.3
Ketinggian torus, Å	7.9 ± 0.1	7.9 ± 0.1	7.9 ± 0.1
Diameter luar, Å	14.6 ± 0.4	15.4 ± 0.4	17.5 ± 0.4
Isipadu rongga, Å ³	174	262	427
Bentuk kristal (dari air)	plat heksagon	parallelogram monoklinik	prisma kuadratik
Pemalar pembauran pada 40 °C	3.443	3.224	3.000

Sepertimana yang telah dilaporkan sebelum ini, gelang siklodekstrin adalah berbentuk silinder atau yang lebih tepat, ia adalah sebuah silinder berbentuk kon yang dipenggal dan juga sering disifatkan sebagai sebiji donat. Bentuk siklodekstrin ini diilustrasikan seperti dalam Rajah 2.7 (a). Bentuk berongga ini terhasil disebabkan oleh penyusunan kumpulan hidroksil dikalangan molekul. Ia seterusnya menghasilkan permukaan dalam rongga yang hidrofobik manakala permukaan luar rongga adalah hidrofilik (Dotsikas & Laukas, 2002; Manzoori & Amjadi, 2003; Valente *et al.*, 2005). Susunan inilah yang membolehkan siklodekstrin bertindak sebagai hos atau perumah untuk memerangkap bahan kimia lain sama ada secara penuh atau sebahagian sahaja tetapi tidak melibatkan pembentukan ikatan-ikatan kovalen (Al-Sherbini, 2005).

Pada satu unit α -D-glukopiranos dalam struktur siklodekstrin tersebut, terdapat dua jenis kumpulan hidroksil (OH) iaitu OH sekunder dan OH primer seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 2.7 (a). Kumpulan OH sekunder berada pada sisi sekunder atau sisi yang lebih luas. Terdapat dua kumpulan OH sekunder iaitu C2–OH dan C3–

OH (rujuk Rajah 3.1). Manakala kumpulan OH primer berada pada sisi primer atau sisi yang lebih kecil. Terdapat hanya satu kumpulan OH primer pada sisi tersebut iaitu C6–OH (Cao *et al.*, 2004). Rajah 2.7 (b) pula menunjukkan dimensi saiz dalam rongga dan saiz luar rongga serta ketinggian bagi molekul β -siklodekstrin. Diameter rongga β -siklodekstrin dibentuk oleh oksigen glikosida (atom titian) dan atom hidrogen yang berada di dalam rongga (rujuk Rajah 2.6).



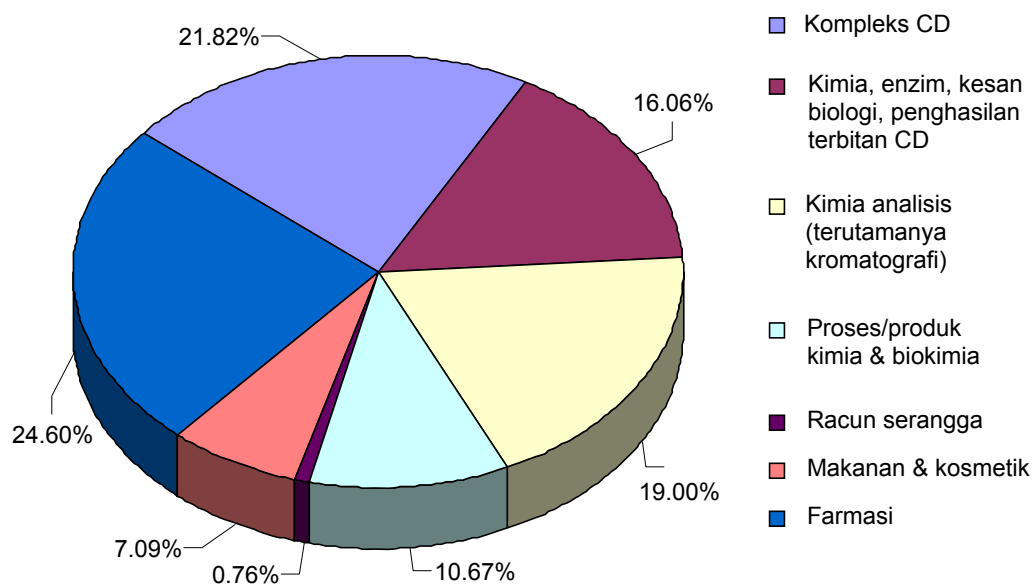
Rajah 2.7: (a) Kawasan hidrofobik, rantau hidrofilik, primer dan sisi sekunder
(b) Geometri atau saiz rongga dan ketinggian β -siklodekstrin.

Seperti yang telah diterangkan sebelum ini, struktur molekul siklodekstrin mengandungi kumpulan OH pada setiap unit α -D-glukopiranosanya. Kedudukan kumpulan OH tersebut yang hampir antara satu sama lain menghasilkan ikatan hidrogen. Bagi struktur molekul β -siklodekstrin, C2–OH dalam satu unit α -D-glukopiranosanya boleh membentuk ikatan hidrogen dengan C3–OH yang berada pada unit α -D-glukopiranosanya yang bersebelahan. Tujuh ikatan hidrogen yang terbentuk menghasilkan satu lilitan ikatan hidrogen yang lengkap pada sisi sekunder β -siklodekstrin tersebut seterusnya menghasilkan struktur β -siklodekstrin yang tegar (Schneider *et al.*, 1998; Lawtrakul *et al.*, 2003).

Konformasi struktur yang mempunyai ikatan hidrogen intramolekul ini seterusnya dapat menghasilkan β -siklodekstrin yang kurang larut dalam air. Manakala, ikatan hidrogen di dalam struktur molekul α -siklodekstrin adalah tidak lengkap. Hal ini disebabkan oleh salah satu unit α -D-glukopiranososa berada dalam keadaan terherot. Sehubungan dengan itu, daripada enam ikatan hidrogen yang mungkin berlaku, hanya empat sahaja yang terbentuk dengan baik. Bagi struktur molekul γ -siklodekstrin pula, ia adalah satu struktur tak sesatah (*non-coplanar*), maka strukturnya menjadi lebih fleksibel atau kurang tegar. Ikatan hidrogen yang wujud dalam struktur molekul γ -siklodekstrin tidak kuat dan menyebabkannya menjadi sebatian yang paling larut dalam air berbanding siklodekstrin yang lain (Szejtli, 1998b).

2.2.3 Kegunaan siklodekstrin

Siklodekstrin adalah suatu struktur molekul yang sangat unik, maka ia menjadi bahan yang sangat penting kepada penyelidikan dalam kedua-dua bidang penyelidikan iaitu dalam bidang sains tulen dan dalam bidang teknologi sains guna (Jiang *et al.*, 2000). Sebatian siklodekstrin tulen atau terbitannya digunakan dalam pelbagai bidang kimia termasuklah sebagai bahan pengesan molekul organik, kimia analisis, enantiomer atau reagen pemisahan bahan (kolum kromatografi) (Piperaki & Parissi-Poulou, 1996; Schneiderman & Stalcup, 2000), enzim pengajukan, pengesan fotokimia (Dubess *et al.*, 2003), kosmetik (Tang *et al.*, 2004), alam sekitar (Al-Sherbini, 2005; Hromadová *et al.*, 2002), kegunaan pendarflor (Manzoori & Amjadi, 2003), tindak balas enzim-substrat dan dalam tindak balas redoks (Pospíšil *et al.*, 2001). Rajah 2.8 menunjukkan laporan oleh *Cyclodextrin-News* mengenai peratusan artikel tentang penggunaan siklodekstrin berdasarkan pengkelasan abstrak dan subjeknya (Szejtli, 1998a).



Rajah 2.8: Peratus pembahagian artikel berdasarkan subjek yang berkaitan siklodekstrin (*Cyclodextrin-News*).

Penerbitan artikel bagi penggunaan siklodekstrin yang terbesar iaitu hampir 25 % adalah untuk kegunaan dalam bidang farmaseutikal. Kebanyakan dadah (*drug*) yang digunakan dalam bidang farmaseutikal adalah kurang larut dalam air (de Sousa *et al.*, 2008). Hal ini menyebabkan penyerapan biologinya lambat dan seringkali proses tersebut tidak sempurna. Tambahan pula, kebanyakan molekul dadah sangat sensitif kepada pengoksidaan, penguraian termal, cahaya dan bahan-bahan lain dalam ramuan produk farmaseutikal. Dalam bidang farmaseutikal, siklodekstrin telah digunakan secara meluas dalam rumusan ubat-ubatan piawai, pengkapsulan dadah dan sebagai agen pembawa dadah (*drug carriers* atau *drug delivery*) (Loftssona & Järvinen, 1999; Prasad *et al.*, 1999; Dubes *et al.*, 2003; Bernini *et al.*, 2004; Calabrò *et al.*, 2004; Szejtli & Szenté, 2005).

Hampir 22 % penerbitan artikel siklodekstrin ini adalah mengenai kajian-kajian fenomena kompleks perumah-tetamu. Kedudukan struktur molekul tetamu dalam rongga hidrofobik siklodekstrin (perumah) tersebut boleh berlaku sama ada

keseluruhan bahagian ataupun hanya sebahagian sahaja berada di dalam rongga (Tang *et al.*, 2005).

Kira-kira 16 % daripada penerbitan artikel tersebut adalah untuk mengkaji sifat-sifat asas kimia dan fizikal siklodekstrin. Ia juga mengenai kajian enzimologi, toksikologi, pengeluaran dan penghasilan sebatian terbitan siklodekstrin. Seterusnya, sebanyak 7% penerbitan artikel yang melibatkan penggunaan siklodekstrin adalah berkaitan barangan makanan, kosmetik dan juga barangan penjagaan diri yang lain. Namun, pada masa yang sama amaun pengeluaran keseluruhan siklodekstrin iaitu hampir sebanyak 70 % adalah untuk digunakan dalam bidang ini. Analisa laporan tersebut juga mengatakan bahawa jumlah siklodekstrin yang digunakan dalam barangan kosmetik dan barangan penjagaan diri yang lain adalah lebih banyak berbanding jumlah yang digunakan dalam penghasilan barangan dadah (Szejtli, 1998a). Telah wujud banyak penyelidikan menggunakan siklodekstrin dalam bidang makanan seperti yang telah dilaporkan oleh López-Nicolás *et al.* (2007), Karathanos *et al.* (2007), Yilmaz (2006), Szejtli & Szenté (2005), Yuliani *et al.* (2005), Prasad *et al.* (1999) dan banyak lagi.

Oleh kerana siklodekstrin mempunyai sifat ketoksikan yang rendah, maka ia digunakan dalam proses pemindahan dan proses penopeng (*masking process*) terhadap komponen-komponen yang tidak diingini dan mengawal pelepasan komponen-komponen yang tertentu terutamanya dalam industri makanan (Grandeury *et al.*, 2003). Kebanyakan bahan perisa makanan sama ada dalam bentuk minyak atau cecair adalah bersifat mudah meruap, maka pengkompleksannya dengan siklodekstrin menjanjikan hasil yang lebih baik dan kurang meruap. Teknologi pengkapsulan konvensional ini juga dapat melindungi perasa sebenar makanan tersebut daripada hilang selepas mengalami atau melalui beberapa proses penyediaan makanan seperti penyejuk bekuan, pencairan atau

proses aliran mikro (*micro waving*). Pengkapsulan menggunakan siklodekstrin membolehkan kuantiti dan kualiti rasa makanan dilindungi untuk satu tempoh masa yang lebih lama (Karathanos *et al.*, 2007; López-Nicolás *et al.*, 2007; Prasad *et al.*, 1999).

Di negara Jepun, siklodekstrin telah digunakan semenjak dua dekad yang lalu dan ia telah diluluskan sebagai “kanji terubahsuai” untuk digunakan dalam industri makanan. Siklodekstrin digunakan untuk menopeng bau agar makanan sentiasa segar. Ia juga digunakan untuk menstabilkan minyak ikan. Selain itu, siklodekstrin digunakan untuk mengawal rasa pahit tannin, membantu dalam pengeluaran kulat dan organisma hidup, hidrolisis susu tanpa lemak serta digunakan dalam proses penyediaan kopi dan teh (Singh *et al.*, 2002; Del Valle, 2004).

Selain itu, siklodekstrin turut dihasilkan untuk pengeluaran mentega rendah kolesterol. Produk-produk haiwan seperti hasil tenusu yang telah dirawat dengan siklodekstrin dilaporkan menunjukkan tahap atau kadar pembuangan kolesterol sehingga sebanyak 80 %. Asid lemak bebas juga boleh dikeluarkan menggunakan siklodekstrin, dengan itu ia dapat meningkatkan sifat penggorengan (*frying property*) seperti mengurangkan pembentukan asap, mengurangkan buih, mengurangkan warna coklat atau perang dan pemendakan sisa-sisa minyak di permukaan (Singh *et al.*, 2002).

Sayur-sayuran dan buah-buahan turut dirawat menggunakan siklodekstrin untuk menghalang proses pemerangan. Contohnya, polifenol oksida yang terkandung di dalam jus buah-buahan dapat bertukar warna seterusnya menyebabkan jus buah-buahan tersebut kelihatan kurang menarik atau cepat rosak. Penambahan siklodekstrin berfungsi untuk menahan polifenol oksida di dalam sayur-sayuran atau buah-buahan tersebut daripada berubah (López-Nicolás *et al.*, 2007).

Dalam penyediaan kosmetik seperti penyediaan produk minyak wangi, siklodekstrin digunakan sebagai penahan ketidakstabilan. Manakala dalam produk penyegar bilik dan detergen, siklodekstrin digunakan untuk mengawal kadar pelepasan wangian melalui kaedah kompleks perumah-tetamu. Tindak balas atau interaksi antara siklodekstrin dengan sebatian atau bahan kimia dalam kosmetik ini dapat menghasilkan satu tenaga halangan yang tinggi untuk mengatasi proses pemeruapan. Dengan ini, bau harum dapat bertahan lebih lama apabila digunakan (Prasad *et al.*, 1999). Selain daripada pengawalan bau, faedah-faedah lain yang diperoleh dengan penggunaan siklodekstrin dalam sektor ini ialah sebagai agen penstabilan, peningkatan mutu perlindungan, meningkatkan kestabilan termal dan memberi rasa yang baik (seperti dalam gincu). Siklodekstrin juga turut digunakan dalam ubat gigi, krim kulit, cecair pelembut kain dan tisu (Del Valle, 2004; Singh *et al.*, 2002).

Penggunaan siklodekstrin di dalam racun perosak pula adalah kurang daripada 1 %. Bagaimanapun, keadaan ini dijangka akan berubah kerana siklodekstrin memainkan peranan penting dalam bidang sains alam sekitar seperti proses penukaran-bio (*bio-conversion*) dan proses penapaian. Siklodekstrin mempunyai sifat-sifat kombinasi seperti meningkatkan keterlarutan bahan-bahan tercemar, pemindahan bahan organik tercemar dan logam berat yang terdapat dalam tanah, air dan atmosfera (udara). Siklodekstrin digunakan dalam proses perawatan air untuk meningkatkan tahap kestabilan, mengurangkan ketoksikan melalui proses pengkompleksan atau pengkapsulan dan penyerapan bahan-bahan tercemar seperti fenol, p-klorofenol, benzena dan bahan tercemar yang lain seperti organofosforus, organoklorin dan asetamid (Kamiya & Nakamura, 1995; Tanada *et al.*, 1997; Wen-Lu *et al.*, 1999; Berset *et al.*, 2004).

Dalam proses penyudah tekstil (*textile finishing*), siklodekstrin digunakan dalam pencelup kain bagi meningkatkan penyerapan pencelup oleh kain dan sekaligus mengurangkan amaun pencelup hilang ke dalam air buangan (Savarino *et al.*, 1999). Dalam industri pembungkusan barangan, kompleks perumah-tetamu siklodekstrin yang mengandungi agen anti-mikrob berminyak dan agen yang mudah meruap disalut pada helaian serapan air dengan pengikat resin asli agar produk sentiasa segar (Singh *et al.*, 2002).

Siklodekstrin boleh diubahsuai secara kimia (terbitan siklodekstrin) untuk meningkatkan sifat-sifat kimia dan fizikalnya. Ia boleh dilakukan melalui penggantian dengan pelbagai kumpulan berfungsi pada sisi sekunder atau primer (Grandeury *et al.*, 2003; Nesnas *et al.*, 2000). Sebagai contoh, dengan menggantikan kumpulan hidroksil siklodekstrin dengan kumpulan sulfat dapat menghasilkan suatu sebatian yang mempunyai keterlarutan yang lebih tinggi. Seterusnya, melalui pengubahsuaian ini, kita dapat meluaskan lagi penggunaan siklodekstrin dalam aktiviti-aktiviti biologiikal seperti bersifat anti-kebolehterbakaran, anti-lipemik, anti-angiogenis dan anti-virus (Tang *et al.*, 2005).

2.3 LAKTOSA

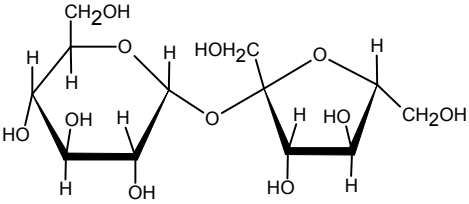
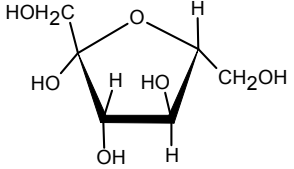
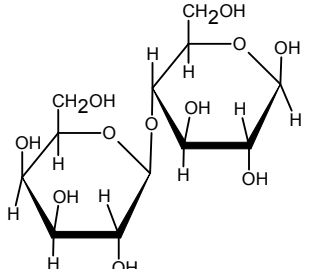
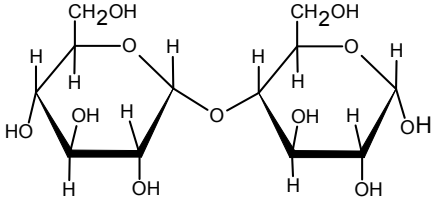
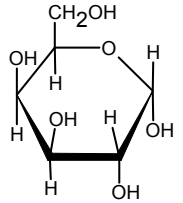
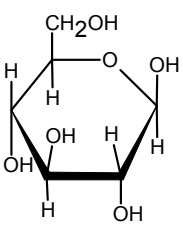
Gula yang dicampurkan ke dalam teh, kopi atau minuman lain biasanya diperoleh daripada tebu dan ia dipanggil sukrosa. Selain itu, gula yang terdapat dalam buah-buahan dikenali sebagai fruktosa. Manakala, gula yang diperoleh daripada barli, gandum serta oat pula dikenali sebagai maltosa. Tubuh kita memerlukan gula kerana ia adalah sumber untuk menjana tenaga yang diperlukan bagi melakukan aktiviti-aktiviti seharian (Birch & Parker, 1979).

Struktur molekul laktosa hampir sama dengan sebatian gula yang disebutkan sebelum ini. Jadual 2.2 menunjukkan struktur asas sebatian gula dan sumber-sumbernya serta struktur molekul laktosa. Laktosa adalah salah satu unsur yang terdapat dalam susu dan produk tenusu yang lain. Susu lembu adalah salah satu produk makanan yang bernilai tinggi kerana ia mengandungi protein yang berkualiti tinggi (mengambil kira semua asid amino yang diperlukan), vitamin-vitamin (terutamanya tiamina, riboflavin, asid pantotenik, vitamin A, B-12, D dan K), bahan mineral (kalsium, kalium, natrium, fosforus), karbohidrat (terutamanya laktosa) dan lipid (lemak) (Pandya & Ghodke, 2007). Produk susu khususnya keju, yogurt, mentega, aiskrim dan banyak lagi merupakan makanan utama dalam diet pemakanan kita.

Kandungan laktosa dalam susu lembu segar adalah lebih kurang 4.1 - 5.0 %. Peratus kandungan laktosa dalam susu adalah penunjuk utama untuk menilai kualiti susu dan dapat digunakan untuk mengesan susu yang tidak normal. Susu tidak normal terhasil daripada lembu yang mempunyai penyakit masitis dan ia mengandungi peratus laktosa yang rendah berbanding susu segar. Kuantiti laktosa yang terkandung dalam susu juga disebabkan oleh bahan makanan yang diberikan kepada haiwan tenusu itu sendiri. Pengesanan dan penentuan tahap laktosa susu adalah sangat penting dalam bidang perubatan. Ia bukan sahaja dapat mengenalpasti kesihatan lembu malah turut memberi kesan terhadap kesihatan manusia (Liu *et al.*, 1998).

Pembuangan laktosa ke persekitaran boleh menyumbangkan kepada masalah pencemaran alam sekitar yang amat membimbangkan yang dihasilkan oleh industri pengeluaran produk tenusu terutamanya dalam menghasilkan produk yang mempunyai kandungan laktosa yang rendah (Novalin *et al.*, 2005; Mukhopadhyay *et al.*, 2003; Demirel *et al.*, 2005).

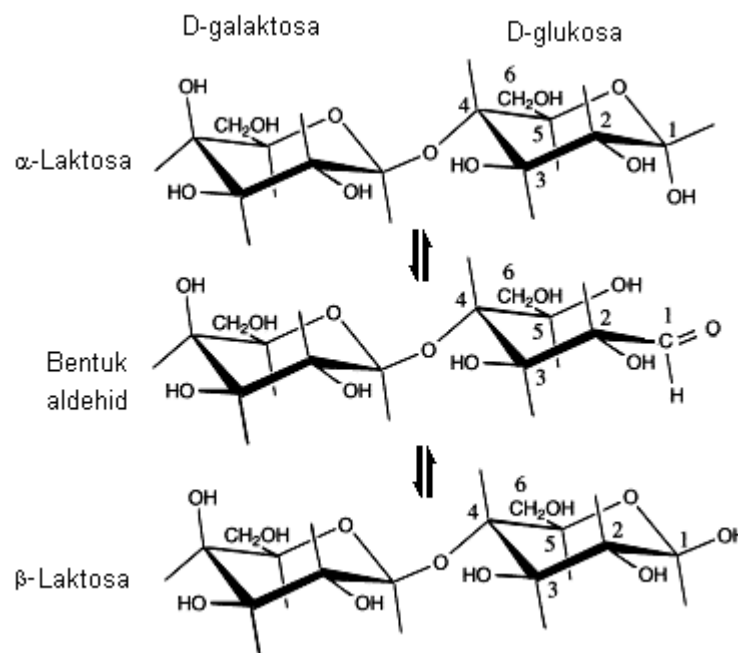
Jadual 2.2: Struktur molekul gula dan sumbernya (Birch & Parker, 1979).

Sebatian	Struktur molekul	Sumber
Sukrosa		Tebu, ubi putih, sorgum, maple
Fruktosa		Madu, buah beri, bawang, ubi kentang, pearsnips (sejenis ubi)
Laktosa		Susu, yogurt, keju
Maltosa		Barli, oat, gandum
Galaktosa		Ubi putih
Glukosa		Jagung, nasi, gandum, ubi kentang, sagu, ubi kayu, ubi garut

2.3.1 Sifat-sifat kimia laktosa

Laktosa dengan berat molekul 182 g mol^{-1} ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$) adalah sejenis disakarida dan satu-satunya karbohidrat yang dihasilkan oleh mamalia. Ia terdiri daripada gabungan dua unit monosakarida iaitu galaktosa dan glukosa yang

dihubungkan melalui ikatan β -1,4 (Fries *et al.*, 1971). Struktur molekul unit galaktosa dan glukosa yang membentuk struktur molekul laktosa ditunjukkan dalam Rajah 2.9. Dapat diperhatikan, atom karbon anomerik (atom karbon yang ditandakan dengan nombor satu, C1) pada unit glukosa tersebut boleh wujud dalam dua struktur isomer hemiasetal yang berbeza. Hal ini seterusnya menghasilkan dua struktur isomer yang berbeza bagi laktosa iaitu α - dan β -laktosa (Dincer *et al.*, 1999).



Rajah 2.9: Diagram laktosa.

Unit glukosa juga wujud dalam bentuk aldehyd bebas (rujuk Rajah 2.9). Bentuk aldehyd ini (bentuk terbuka) adalah satu perantaraan dalam penyeimbangan (*interconversion*) antara α -dan β -laktosa. Kewujudan aldehyd bebas dalam campuran keseimbangan adalah sangat sedikit. Seterusnya, kristal laktosa yang mempunyai sistem *pseudo-ternary* ini cenderung untuk menjadi seimbang melalui proses *mutarotation*. Namun, kristal α -laktosa hidrat tidak akan tumbuh dalam keadaan tulen. Keadaan pertumbuhan laktosa ini selalunya mengandungi β -laktosa dengan nisbah keseimbangan β - laktosa kepada α -laktosa adalah diantara 1.25-1.64 dan ia juga bergantung kepada suhu serta kepekatan larutan tersebut (Dincer *et al.*, 1999).

2.3.2 Ketidaktahanan tubuh terhadap laktosa

Ketidaktahanan tubuh terhadap laktosa ini juga dikenali sebagai *Inborn Errors Metabolism* (IEM) iaitu sekumpulan penyakit genetik disebabkan kerosakan sesuatu gen. Justeru tubuh tidak boleh menukarkan makanan kepada tenaga secara sempurna disebabkan ketiadaan atau kekurangan enzim tertentu yang membantu memecahkan (metabolism) bahagian makanan itu. Secara saintifiknya, ketidaktahanan tubuh terhadap laktosa ini adalah disebabkan oleh ketidak upayaan tubuh untuk menghadam laktosa (Campbell *et al.*, 2004). Ia berlaku kerana kekurangan enzim laktase dalam usus. Enzim laktase wujud sebagai satu lapisan dalam usus kecil yang berfungsi untuk memisahkan laktosa kepada dua unit gula ringkas iaitu glukosa dan galaktosa (Birch & Parker, 1979). Glukosa sahaja yang boleh diserap oleh tubuh untuk tenaga dan tumbesaran tubuh. Ketidadaan enzim laktase dalam tubuh seseorang menyebabkan laktosa yang melalui usus kecil ke kolon (usus besar) dipisahkan oleh bakteria menjadi asid laktik dan gas-gas lain yang boleh menyebabkan gangguan peradangan dan julap. Gejala-gejala lain yang boleh berlaku berkaitan asid laktik termasuklah kembung perut, muntah-muntah, cirit-birit, kejang perut dan lain-lain kesakitan di bahagian perut (Troelsen, 2005).

Ketidakupayaan menghadam laktosa berlaku hampir kepada semua manusia di dunia ini. Di Asia, peratus bilangan penduduk yang mengalami masalah ini adalah sebanyak 90 %, campuran Afrika dan Amerika sebanyak 80 %, kaum Hispanik ialah 70 % dan di kalangan Caucasian pula ialah sebanyak 15 %. Mengikut laporan kesihatan di Malaysia, setiap satu kes dikesan bagi setiap 3,000 kelahiran manakala di Amerika, setiap satu kes dikesan bagi setiap 1,500 kelahiran. Ketua Unit Genetik dan Metabolism, Institut Pediatrik, HKL, Dr. Y.S. Choy berkata, IEM boleh berlaku kepada sesiapa saja sama ada bayi yang baru lahir mahupun orang dewasa. Lebih malang lagi, penyakit IEM ini boleh menyebabkan kematian (Iszahanid, 2006).